

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO

Efeito do treinamento e destreinamento no estresse e  
metabolismo hepático em camundongos fêmeas

Aluna: Tassiane Zaros  
Graduação em Educação Física – modalidade Saúde  
UNIFESP – Campus Baixada Santista

Orientadora: Prof. Dr. Márcia Regina Nagaoka  
Departamento de Biociências  
UNIFESP – Campus Baixada Santista

Co-orientadora: Prof. Dr. Vânia D'Almeida  
Departamento de Psicobiologia  
UNIFESP – Campus São Paulo

Santos  
2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO

Efeito do treinamento e destreinamento no estresse e  
metabolismo hepático em camundongos fêmeas

Tassiane Zaros

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Universidade Federal de São Paulo como  
requisito parcial para obtenção do título de  
bacharel em Educação Física - Modalidade  
Saúde

Orientadora: Prof. Dr. Márcia Regina Nagaoka

Co-orientadora: Prof. Dr. Vânia D'Almeida

Santos  
2010

Tassiane Zaros

Efeito do treinamento e destreinamento no estresse e metabolismo hepático em  
camundongos fêmeas

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Universidade Federal de São Paulo como  
requisito parcial para obtenção do título de  
bacharel em Educação Física - Modalidade  
Saúde.

Aprovado em \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2010.

---

Profa. Dra. Márcia Regina Nagaoka  
Universidade Federal de São Paulo

---

Prof. Dr. Sionaldo Eduardo Ferreira  
Universidade Federal de São Paulo

---

Prof. Dr. Ricardo José Gomes  
Universidade Federal de São Paulo

SANTOS  
2010

## Agradecimentos

Agradeço primeiramente aos meus pais, Rosangela Zadra Zaros e Cláudio Tadeu Zaros e ao meu irmão Kaye Zaros, pela força e apoio que me deram durante esses 4 anos de faculdade e por acreditarem em mim.

Agradeço à UNIFESP, pela oportunidade de realização da Graduação em Educação Física e, especialmente:

À minha orientadora Márcia Regina Nagaoka, que desde o começo da faculdade sempre esteve presente, me ajudando, conversando, dando conselhos, broncas, carinho, apoio. Mais que minha professora, orientadora e amiga, uma segunda mãe. Muito obrigada por tudo.

À minha coorientadora Vânia D' Almeida, que tem um carinho especial pela turma 02 de Educação Física e vice versa. Obrigada por todas as oportunidades e carinho.

A todos os professores que ministraram as disciplinas decorrer do curso, que de alguma forma auxiliaram na minha formação.

Aos meus amigos de graduação, pelos quatro anos de convivência, intimidade, amizade, conversas, estudos em grupo, risadas, em especial a Marília, Geovana e Talissa que são muito especiais, sempre estiveram comigo, tiveram paciência, e me ajudaram sempre. Obrigada a todas, amo vocês.

A minha amiga e Irmã de consideração Aline Lima, que conviveu comigo durante quase toda a graduação, sempre me ajudou, me aguentou, me apoiou, brigou comigo quando tinha que brigar, conversou quando tinha que conversar, abraçou quando tinha quer abraçar, enfim obrigada por tudo, amo você.

A minha priminha Sophia, que mesmo não entendendo nada, só o fato de estar com ela, brincando, ganhando abraço, beijos, me inspira e ajuda muito nessa reta final.

A minha amiga Ana Paula, que em pouco tempo vem me entendendo, ajudando, conversando, e tudo isso tem sido importante e especial para mim.

Ao meu namorado que mesmo não me entendendo às vezes, sempre esteve presente quando precisei.

Aos alunos da Vânia, Leandro e Lisandro, pela ajuda nos experimentos, ensinamentos e paciência. Obrigada.

Enfim, a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para que este trabalho fosse concluído com sucesso. Muito obrigada a todos vocês.

## Resumo

**Introdução:** Nas últimas décadas tem-se destacado a importância da manutenção de hábitos saudáveis visando melhoria da qualidade de vida. A prática regular de atividade física é recomendada para a prevenção e reabilitação de doenças cardiovasculares e doenças crônico-degenerativas. Estudos epidemiológicos demonstraram relação direta entre inatividade física e a presença de múltiplos fatores de risco para o desenvolvimento de doenças. **Objetivos:** Avaliar o efeito de programa de exercício físico e sua interrupção em parâmetros metabólicos e de estresse em camundongos. **Metodologia:** Foram utilizados camundongos fêmeas com 2,5 a 3 meses de idade distribuídos em 3 grupos: controle, treinado (10 semanas) e interrupção do treino (8 semanas de treino e 2 semanas de interrupção). O treino consistiu de natação (1h/dia, 5 dias/sem). Os animais foram pesados continuamente e ao final de 10 foram sacrificados e sangue, gordura perigonadal e outros tecidos foram coletados e armazenados para posterior análise. Dosagens plasmáticas de glicose, colesterol, triglicerídeos e lactato foram realizadas utilizando *Accutrend Plus* (Roche). Foi também analisado o conteúdo de glicogênio hepático e a expressão de glicogênio fosforilase por PCRq. Estresse sistêmico foi analisado pela dosagem sérica de corticosterona por radioimunoensaio e o estresse hepático pela expressão da HSP 47 por *imunoblotting*. **Resultados:** Todos os animais aumentaram seu peso ao longo do período de estudo. Este ganho foi acompanhado do aumento de gordura perigonadal avaliado no final do experimento, sendo maior nos grupos treinados e destreinados. Não houve diferença estatística nestes parâmetros entre os grupos. Níveis séricos de glicose ou colesterol não diferiram entre os grupos. A concentração sérica de triglicerídeos aumentou discretamente nos treinados ( $210 \pm 19$  mg/dL) em relação ao controle ( $192 \pm 29$  mg/dL). Nos animais destreinados houve diminuição na concentração de triacilglicerol ( $166 \pm 16$  mg/dL) em relação aos treinados e controle. Nas dosagens séricas de lactato verificamos que o grupo treinado ( $6,8 \pm 0,4$  mg/dL) e destreinado ( $7,0 \pm 0,3$  mg/dL) tiveram diminuição da concentração de lactato em relação ao grupo controle ( $8,4 \pm 0,7$  mg/dL). Os animais destreinados apresentaram menos glicogênio hepático ( $0,36 \pm 0,05$  mg/g tecido) quando comparado ao grupo treinado ( $0,53 \pm 0,02$  mg/g tecido). No entanto, quando analisada a expressão gênica da glicogênio fosforilase hepática, não verificamos diferença entre os grupos. Em relação ao estresse, verificamos que o treino ou sua interrupção não alterou o nível de corticosterona sérica. Em contrapartida, quando analisamos a HSP 47 hepática verificamos aumento da sua expressão no grupo treinado ( $27,8 \pm 6,5$  UA) e destreinado ( $31,7 \pm 6,5$  UA) em relação ao grupo controle ( $17,7 \pm 4,6$  UA). **Conclusão:** Nossos dados sugerem que treinamento e sua interrupção produzem alterações no metabolismo hepático em relação a eficiência do armazenamento e uso de glicogênio. Verificamos também que a interrupção do treino causa maior dano hepático (expressão de HSP 47) que o treinamento (ANOVA  $p= 0,420$ )

**Palavras chave:** Camundongos fêmeas, qualidade de vida, treinamento, destreinamento, metabolismo, estresse.

## ABSTRACT

**Introduction:** In recent decades has highlighted the importance of maintaining healthy habits for improvement in quality of life. The practice of regular physical activity is recommended for the prevention and rehabilitation of cardiovascular diseases and chronic degenerative diseases. Epidemiological studies have demonstrated a direct relationship between physical inactivity and the presence of multiple risk factors for disease development. **Objectives:** To evaluate the effect of physical exercise program and its disruption in metabolic parameters and stress in mice. **Methodology:** We used female mice with 2.5 to 3 months of age divided into 3 groups: control, trained (10 weeks) and discontinuation of training (8 weeks of training and 2 weeks of discontinuation). The training consisted of swimming (1 h / day, 5 days / week). The animals were continuously weighed and the final 10 were killed and blood, fat and other tissues perigonadal were collected and stored for later analysis. Plasma levels of glucose, cholesterol, triglycerides and lactate were performed using Accutrend Plus (Roche). We also analyzed the liver glycogen content and expression of glycogen phosphorylase by PCRq. Systemic stress was assessed by serum corticosterone by radioimmunoassay and liver stress by the expression of HSP 47 by immunoblotting. **Results:** All animals increased their weight during the study period. This gain was accompanied by increased fat perigonadal assessed at the end of the experiment, being higher in trained and untrained groups. There was no statistical difference in these parameters between the groups. Serum glucose or cholesterol did not differ between groups. Serum triglycerides increased slightly in the trained ( $210 \pm 19$  mg / dL) compared to control ( $192 \pm 29$  mg / dL). In untrained animals showed reductions in triacylglycerol concentration ( $166 \pm 16$  mg / dL) compared with control and trained. In the serum lactate found that the trained group ( $6.8 \pm 0.4$  mg / dL) and untrained ( $7.0 \pm 0.3$  mg / dL) had a decrease of lactate concentration in the control group ( $8.4 \pm 0.7$  mg / dL). Untrained animals showed less liver glycogen ( $0.36 \pm 0.05$  mg / g tissue) compared to the trained group ( $0.53 \pm 0.02$  mg / g tissue). However, when analyzing the gene expression of hepatic glycogen phosphorylase, no significant difference between groups. In relation to stress, we found that the training or its interruption did not affect the level of serum corticosterone. In contrast, when we analyzed the hepatic HSP 47 found increased expression in the trained group ( $27.8 \pm 6.5$  AU) and untrained ( $31.7 \pm 6.5$  AU) in the control group ( $17.7 \pm 4.6$  AU). **Conclusion:** Our data suggest that training and its interruption produces changes in liver metabolism in relation to efficiency of storage and use of glycogen. We also found that discontinuing the practice causes more liver damage expression (HSP 47) than the training (ANOVA  $p = 0.420$ )

**Keywords:** Female mice, quality of life, training, detraining, metabolism, stress.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
1. Introdução	8
2. Justificativa	10
3. Objetivo geral	11
4. Objetivo específico	11
5. Materiais e Métodos	12
1. Animais	12
2. Protocolo de treino	12
3. Dosagens bioquímicas e metabólicas	13
3.a Dosagem do conteúdo de glicogênio	13
3.b.Dosagem do glicogênio fosforilase por PCR	14
3.c.Dosagem sérica de corticosterona	15
3.d.Dosagem da HSP 47 hepática	15
6. Análise dos resultados	17
7. Resultados	18
7.1. Ganho de peso	18
7.2. Dosagens sérica de glicose, triglicérides, colesterol e lactato	20
7.3. Glicogênio hepático: conteúdo de glicogênio e glicogênio fosforilase	22
7.4. Estresse sistêmico e hepático: dosagem sérica de corticosterona e hepático de HSP 47	22
8. Discussão	26
9. Conclusão	37
10. Referências	38

## ÍNDICE DE FIGURAS E TABELA

Figura	Título	Página
1	a. Peso (g) dos animais submetidos ao treino contínuo ou interrupção do treino	19
	b. Gordura perigonadal (g) dos animais submetidos ao treino contínuo ou interrupção do treino	
	c. Gordura perigonadal relativo ao peso (%) dos animais submetidos ao treino contínuo ou interrupção do treino	
2	a. Glicose (mg/dL) no soro dos camundongos fêmeas submetidas ao treinamento e destreinamento	21
	b. Triglicerídeo (mg/dL) no soro dos camundongos fêmeas submetidas ao treinamento e destreinamento	
	c. Colesterol (mg/dL) no soro dos camundongos fêmeas submetidas ao treinamento e destreinamento	
	d. Lactato (mg/dL) no soro dos camundongos fêmeas submetidas ao treinamento e destreinamento	
3	Glicogênio hepático (mg/g tecido) dos camundongos fêmeas submetidas ao treinamento e destreinamento	23
4	Glicogênio fosforilase hepática dos camundongos fêmeas submetidas ao treinamento e destreinamento	23
5	Corticosterona sérica dos camundongos fêmeas submetidas ao treinamento e destreinamento	24
6	Expressão da HSP 47 no fígado dos camundongos fêmeas submetidas ao treinamento e destreinamento	25
7	Síntese de glicose pelo fígado	28
8	Mecanismos potenciais envolvidos no estímulo do transporte de glicose pelo músculo no exercício físico	30
9	Potenciais mecanismos de efeito do exercício na sinalização intracelular da insulina	32
10	a. Lactato e exercício físico. Tamponamento pelo lactato;	34
	b. Lactato e exercício físico. Participação do lactato no início da atividade física	34

Tabela	Título	Página
1	Relação entre os dados bioquímicos e os processos de treinamento e interrupção do treinamento em camundongos fêmeas.	29